

تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اسفرزه در دماهای متفاوت

سعید حمزی^۱، علی سروش‌زاده^{۲*}، احمد اصغرزاده^۳، حسنعلی نقدی‌بادی^۴

۱- دانشجوی دکتری اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- استادیار، گروه بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

۴- دانشیار، گروه پژوهشی کشت و توسعه گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج

*آدرس مکاتبه: تهران، کیلومتر ۲۵ جاده کرج، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تلفن: ۴۴۱۹۶۵۲۲ (۰۲۱) نمابر: ۴۴۱۹۶۵۲۲ (۰۲۱)

پست الکترونیک: rsoroosh@modares.ac.i

تاریخ تصویب: ۹۱/۲/۵

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۱۱

چکیده

مقدمه: یکی از گیاهان دارویی با ارزش اسفرزه گونه اواتا (*Plantago ovate forsk*) متعلق به خانواده بارهنگ (*Plantaginaceae*) می‌باشد. یکی از مشکلات اصلی تکثیر بسیاری از گیاهان دارویی جوانه‌زنی کم و نامنظم می‌باشد که در اثر دمای پایین در ابتدای بهار در مرحله جوانه‌زنی رخ می‌دهد. باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از طریق مکانیزم‌های مختلفی باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط تنش می‌شوند.

هدف: ارزیابی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اسفرزه اواتا تحت شرایط دمای پایین می‌باشد. روش بررسی: این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. تیمارها شامل سویه متفاوت از باکتری‌های سدوموناس (۱۱، ۱۰۸ و ۱۱۲)، ازتوباکتر (۵، ۱۵، ۳۵)، آزوسپریلیوم (برازیلنس، لیسوفرم و ایراکینز)، مزوریزیوم (IC ۲۰۹۱ و IC ۵۹) و شاهد (بدون تلقیح) و تیمارهای دمایی شامل (۵، ۱۰ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد) بوده‌اند.

نتایج: بهترین دما برای جوانه‌زنی بذر گیاه اسفرزه ۱۰ درجه می‌باشد. باکتری‌های جنس مزوریزیوم و سدوموناس بیشترین تأثیر را بر ویژگی‌های جوانه‌زنی تحت تنش دمای پایین در مقایسه با شاهد داشته‌اند. تلقیح بذر با سویه سدوموناس در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین تأثیر را بر شاخص جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک کل، شاخص قدرت گیاهچه و شاخص مدت جوانه‌زنی داشته است و حداکثر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه در دمای ۱۰ درجه با سویه‌های ازتوباکتر و مزوریزیوم مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: کاربرد باکتری‌های محرک رشد جهت کاهش تأثیر تنش سرما بر جوانه‌زنی بذور اسفرزه گونه اواتا مؤثر است.

گل‌واژگان: گونه اسفرزه (*Plantago ovate forsk*)، کودهای زیستی، دما، صفات جوانه‌زنی



مقدمه

جوانه‌زنی کم و نامنظم یکی از مشکلات اصلی تکثیر خیلی از گیاهان دارویی می‌باشد این امر به خصوص در بهار در اثر دمای پایین ممکن است رخ دهد [۱۲]. دمای پایین در محدوده بین ۰ تا ۱۵ درجه باعث ایجاد تنش سرما و خسارت به گیاهان مناطق گرمسیری و معتدله می‌شود [۲۰]. در تنش سرما به دلیل تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، و در نتیجه سرعت واکنش‌ها و متابولیسم مواد حد واسط شامل (هورمون‌ها و سایر مولکول‌های سیگنالینگ) جوانه‌زنی بذر تغییر می‌کند و رشد گیاهچه کاهش می‌یابد [۹]. از طرف دیگر گزارش شده که جوانه‌زنی بذور می‌تواند به وسیله کاربرد کودهای زیستی بهبود یابد [۸]. از جمله کودهای زیستی می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) اشاره کرد. این گروه از باکتری‌ها در منطقه ریزوسفر از طریق مکانیزم‌های مختلفی باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در شرایط تنش می‌شوند. یکی از مکانیزم‌های مستقیم تاثیر گذار تولید فیتوهورمون‌هایی از قبیل اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و جلوگیری از تولید هورمون اتیلن می‌باشد [۳، ۲۵]. سایر مکانیزم‌هایی که به وسیله آنها باکتری‌ها (PGPR) موجب بهبود رشد در شرایط تنش می‌شوند عبارتند از بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، توسعه سیستم ریشه و جلوگیری از ریزش اندام هوایی، افزایش گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن مولکولی است [۱۸].

یکی از گیاهان دارویی با ارزش اسفرزه متعلق به خانواده بارهنگ (*Plantaginaceae*) با دو گونه با ارزش دارویی (*P. ovata* و *P. psyllium*) می‌باشد. این گیاه بومی هند و ایران است و در مناطق بیابانی مجاور از جمله نواحی غرب آسیا، کشورهای مدیترانه و عراق گسترش یافته است [۱۱]. این گیاه به طور طبیعی از طریق بذر تکثیر می‌شود و ارزش بذورهای آن ناشی از کمیت و کیفیت موسیلاژ موجود در لایه‌های سطحی پوست دانه می‌باشد [۱۵]. برخی تحقیقات حاکی از آن است که مصرف اسفرزه به عنوان یک روش ایمن

و مؤثر برای کاهش کلسترول و کنترل قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد [۱۷]. دانه اسفرزه به عنوان داروی ملین به کار می‌رود و در معالجه یبوست به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. همچنین در معالجه کوتاه مدت اسهال با علل مختلف کاربرد دارد [۱۶]. موسیلاژ مواد فیبری است که پس از جذب آب مواد ژله مانند بی‌رنگی را تشکیل می‌دهد که ده برابر یا بیشتر افزایش حجم پیدا می‌کند که به دلیل هیدروفیلیک بودن آن است که مقدار آن حدود ۲۵ درصد عملکرد دانه است. دانه‌های اسفرزه علاوه بر موسیلاژ و ترکیبات ثانویه حاوی پروتئین، روغن غیرفرار، سلولز و نشاسته می‌باشد [۱۷]. گیاه اسفرزه یکساله است و طول دوره رشد آن کوتاه (۱۲۰ تا ۱۳۰ روز) می‌باشد. این گیاه سازگاری خوبی به شرایط مختلف آب و هوایی از جمله در مناطق خشک و نیمه خشک دارد و محدوده دمای رشد آن ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شده [۱۱]. درجه حرارت مطلوب برای جوانه‌زنی این اسفرزه ۱۴ درجه ذکر شده است [۱۳]. با وجود این نجفی در سال ۲۰۰۲ گزارش کرد که جوانه‌زنی این گونه در محدوده بین ۴ تا ۱۰ درجه می‌باشد [۱۵].

هدف اصلی از این تحقیق تعیین اثر باکتری‌های (PGPR) بر روی جوانه‌زنی بذر و صفات رشدی گیاهچه گونه (*Plantago ovate*) تحت شرایط دماهای مختلف مخصوصاً (دمای پایین) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در سال ۸۸ در فصل پاییز به اجرا درآمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. عامل اول دما در ۳ سطح شامل [۵، ۱۰، ۲۰] درجه سانتی‌گراد، عامل دوم سویه‌های باکتری شامل ۱۳ سویه (سدوموناس ۱۱، سدوموناس ۱۰۸، سدوموناس ۱۱۲، ازتوباکتر ۵، ازتوباکتر ۱۵، ازتوباکتر ۳۵، آزوسپریلیوم برازیلنس،



درصد انجام شد.

نتایج

جدول شماره ۱ نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات اصلی تیمارهای دما، باکتری و اثرات متقابل آنها معنی‌دار بود. بنابراین مقایسه میانگین اثرات متقابل بین تیمارها مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به جدول‌های مقایسه میانگین (جدول‌های شماره ۲، ۳، ۴) در شاهد بدون تلقیح در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد درصد جوانه‌زنی بیشتر از شرایط دمای ۵ و ۲۰ درجه بود و تلقیح با باکتری در این دما درصد جوانه‌زنی را به طور معنی‌داری افزایش نداد. این امر نشان می‌دهد که بهترین دما برای جوانه‌زنی بذر این گیاه ۱۰ درجه می‌باشد و گیاه تحت شرایط تنش نمی‌باشد. همچنین باکتری‌های حاوی آنزیم ACC دی‌آمیناز در شرایط دمای تنش را فعالیت مفید دارند و مانع اثر اتیلن می‌شوند. همچنین در این دما تولید هورمون جیبرلین افزایش یافته که موجب فعال شدن آنزیم‌های مؤثر در تجزیه نشاسته و شروع فعالیت جوانه‌زنی می‌شود. در اثر افزایش دما (۲۰ درجه سانتی‌گراد) و با کاهش دما (۵ درجه سانتی‌گراد) درصد جوانه‌زنی شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. به طوری که در این دو شرایط دمایی تفاوت معنی‌داری بین بذور شاهد از نظر درصد جوانه‌زنی نبود. تلقیح بذور با باکتری در شرایط دمای ۲۰ درجه تاثیر معنی‌داری بر بهبود درصد جوانه‌زنی نداشت (جدول شماره ۲). در مقابل در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد تلقیح بذور با باکتری‌های (سدوموناس ۱۱۲ و سودوموناس ۱۱، ۱۰۸، ازتوباکتر ۵ و سایر سویه‌ها) موجب بهبود درصد جوانه‌زنی شد.

مقایسه میانگین شاخص جوانه‌زنی میان تیمارهای شاهد تلقیح نشده در دماهای مختلف (جدول‌های شماره ۲، ۳، ۴) نشان می‌دهد که در دمای ۵ درجه بالاترین مقدار این شاخص حاصل شد و تلقیح با باکتری‌ها تاثیری بر بهبود این شاخص در دمای ۵، ۱۰ و ۲۰ درجه نداشت. سرعت جوانه‌زنی در تیمار

آزوسپریلیوم لیپوفر، آزوسپریلیوم ایراکینز، مزوریزوبیوم IC۵۹، مزوریزوبیوم IC ۲۰۹۱ و مزوریزوبیوم SWRI ۷ و یک تیمار بدون تلقیح (شاهد) می‌باشد. باکتری‌های فوق از بانک میکروبی بخش تحقیقات بیولوژیکی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب تأمین شده بود. بذره‌ای اسفرزه قبل از انجام آزمایش با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و سپس ۳ مرتبه با آب مقطر آشویی شدند. تعداد ۵۰ بذر انتخاب و در کف پتری دیش‌ها (با قطر ۹ سانتی‌متر) روی کاغذ صافی واتمن قرار داده شدند. سپس به هر پتری ۲ میلی‌لیتر از محلول سوسپانسیون یک نوع از باکتری‌ها اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه بذرها در محلول باکتری غوطه‌ور شدند تا عمل تلقیح به طور کامل انجام گیرد. بذره‌ای تیمار شاهد در محیط کشت مایع بدون حضور باکتری قرار داده شدند. پتری دیش‌ها محتوی بذور به داخل ژرمیناتورهایی با دمای ثابت ۵، ۱۰ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پتری دیش‌ها به طور روزانه باز بینی و تعداد بذرهایی که ریشه‌چه آنها قابل رویت بود به عنوان بذره‌ای جوانه‌زده شمارش شدند. در روز آخر آزمایش (روز دهم) نیز صفات مربوط به جوانه‌زنی از قبیل درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه، تعداد بذره‌ای نرمال، تعداد بذره‌ای غیرنرمال، تعیین شد. علاوه بر این نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه و شاخص میزان جوانه‌زنی، سرعت و درصد جوانه‌زنی از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

درصد جوانه‌زنی = $100 \times \frac{\text{تعداد کل بذرها}}{\text{تعداد بذره‌ای جوانه‌زده تا روز آخر}}$

سرعت جوانه‌زنی = $\frac{\text{تعداد روز تا آخرین/تعداد بذره‌ای جوانه‌زده} + \dots + (\text{تعداد روز تا اولین شمارش})}{\text{تعداد بذره‌ای جوانه‌زده}}$

شاخص میزان جوانه‌زنی = $\frac{\text{مجموع زمان بر حسب روز از شروع آزمایش جوانه زنی/مجموع کل بذور جوانه‌زده تا پایان آزمایش}}$

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار دانکن در سطح ۵



جدول شماره ۱- تجزیه واریانس میانگین مربعات ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه اسفرزه (گونه اواتا)

نسبت طول ساقچه به ریشه چه	مدت جوانه زنی	قدرت نامیه	وزن خشک کل	وزن تر کل	طول ساقچه	طول ریشه چه	گیاهچه پروپاگای عادی	سرعت جوانه زنی	ثنا جوانه زنی	درصد جوانه زنی	درجه آزادی	منابع تغییرات (S.O.V)
۶۳/۲**	۸۷۲**	۲۰۱۶**	۰/۰۲*	۹/۴۲**	۲۴۵۳**	۶۹۶**	۵۷۹۸**	۷۶۹۷**	۱۱۶۰**	۲۲۸/۱**	۲	دما
۱۴/۲**	۰/۰۳*	۵۶۷**	n.s	۰/۲۶*	۱۱/۸**	۲۳/۱**	۱۳۹/۳**	۲/۶۷**	۱۶۲**	۶۱۶/۸**	۱۲	باکتری
۱۱/۹**	۲/۹**	۵۲/۵**	۱/۷*	۸/۷**	۲۴/۸**	۱۸/۳**	۴۴/۹**	۲/۸**	۱۱۶/۸**	۶۵/۳**	۲۴	دما* باکتری
۰/۰۱۱	۰/۰۱۳	۰/۴۱	۰	۰/۰۲	۰/۵۲	۰/۵۳	۳/۲۹	۰/۷۸	۱/۳۱	۱۰/۲۸	۱۱۷	خطای آزمایش
											۱۵۶	کل
												ضرب
												تغییرات
												(CV)%
۱۴/۷	۵/۶	۸/۳	۱۱	۱۲	۱۰/۷	۱۳/۶	۹/۲۱	۱/۱	۲/۹	۲/۷۲		

*, **, ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

نشان می‌دهد که بهترین دما برای جوانه‌زنی بذر گیاه اسفرزه ۱۰ درجه می‌باشد.

طول ریشه چه بذور تلقیح نشده (شاهد) در دمای ۵ درجه بلندتر از ریشه بذور تلقیح شده در دماهای ۱۰ و ۲۰ درجه بود. تلقیح با باکتری تأثیری بر این صفت در دمای ۱۰ و ۲۰ درجه نداشت.

طول ساقچه در تیمارهای شاهد در هر ۳ دما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت در دمای ۵ درجه تلقیح با باکتری سدوموناس ۱۱ سبب افزایش معنی‌دار طول ساقچه بذور نسبت به تلقیح با این باکتری در دو دمای ۱۰ و ۲۰ درجه شد. وزن تر کل گیاهچه‌ها در دمای ۵ درجه بیشتر از دو دمای دیگر بود و

شاهد بدون تلقیح در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۵ و ۲۰ درجه بود و با تلقیح باکتری در این دما افزایش معنی‌داری در این صفت مشاهده نشد. از طرف دیگر سرعت جوانه‌زنی در بذور شاهد با افزایش دما به ۲۰ درجه کاهش یافت. اما تلقیح بذور با باکتری مزوریزوبیوم IC۵۹ سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی در دمای ۲۰ درجه شد. به طوری که با تیمار شاهد در دمای ۵ و ۱۰ درجه تفاوت معنی‌داری نداشت.

تولید گیاهچه‌های غیرعادی در بین تیمارهای تلقیح نشده با باکتری در شرایط دمای ۵ و ۲۰ درجه بیشتر از ۱۰ درجه بوده و تلقیح با باکتری تأثیری بر تولید گیاهچه‌های غیرعادی نداشت. این نتیجه همانند نتیجه تأثیر دما بر درصد جوانه‌زنی





جدول شماره ۲- مقایسه نتایج اثرات مختلف دمای بستر، دمای هوا، رطوبت نسبی و ویژگی‌های مختلف جویان زنبی بلدر

نوع باکتری	درصد جویان زنبی	شاخص جویان زنبی (کل باکتریها)	سرعت جویان زنبی (بذر روز)	کدامچه غیرعادی	طول ریشه (سانتی متر)	طول ساقچه (سانتی متر)	وزن تر کل (گرم)	وزن خشک کل (گرم)	قدرت نامیه (درصد)	مدت جویان زنبی (روز در بذر)	نسبت طول ساقچه به ریشه چه
سالمونلا ۱۲	۳۲/۸۴gh	۵/۴۵c	۲۷/۵ef	۳۳/۵a	۱/۷۳b	۱/۸۷b	۰/۳۱ij	۰/۱۰۱e	۰/۸c	۳/۱۵bc	۰/۵۲c
سالمونلا ۱۱	۳۵/۴gh	۵/۳c	۲۹/۷bcd	۳۱/۵abcd	۲/۵۹b	۲/۵۹b	۰/۲۶j	۰/۰۱۰de	۱/۲c	۲/۴def	۰/۳۳c
سالمونلا ۱۰۸	۳۲/۵gh	۵c	۲۸/۹bode	۳۳/۲cab	۲/۳۱b	۲/۳۱b	۰/۳۱j	۰/۰۱e	۰/۹c	۲/۴def	۰/۳c
اگزیاکیر ۵	۳۱h	۵/۱۴c	۲۷/۷def	۳۴/۲۵a	۱/۹۸b	۱/۹۸b	۰/۳۲ij	۰/۰۱e	۰/۸c	۳/۱۵bcd	۰/۵c
اگزیاکیر ۱۵	۴۰/۵ defgh	۶/۹c	۳۰/۱b	۳۰abcdef	۱/۸۷b	۱/۸۷b	۰/۳۱ij	۰/۰۱۰de	۰/۹c	۲/۳fig	۰/۵۸c
اگزیاکیر ۳۵	۴۴defgh	۷/۲۴c	۲۸/۵bodef	۳۰abcdef	۱/۵۵b	۱/۵۵b	۰/۴efghij	۰/۰۱۱e	۰/۹c	۳/۵bodef	۰/۸۵c
موریزو ریتوم ۱۵۹۹	۴۳/۵defgh	۷/۲c	۲۹/۷ab	۳۰abcdef	۱/۶۷b	۱/۶۷b	۰/۳۸fghij	۰/۰۲ode	۱c	۲/۴effg	۰/۷۸c
موریزو ریتوم ۲۱۷	۴۴/۷defgh	۷/۲c	۲۸/۹bode	۲۸/۵bodef	۱/۸۶b	۱/۸۶b	۰/۳۹fghij	۰/۰۲ode	۱/۱c	۲/۵def	۰/۶۹c
موریزو ریتوم ۲۰۹	۳۴/۳fgh	۵/۶۵c	۲۸/۵bodef	۳۳abc	۲/۳۳b	۱/۶۱b	۰/۳۱ij	۰/۰۱e	۱/۳c	۲/۵bode	۰/۶۸c
آروسیریلتوم پرازیلیس	۳۶/۵efgh	۵/۵۸c	۲۷f	۳۰/۸abode	۲/۱۲b	۱/۵۴b	۰/۳۸fghij	۰/۰۲ode	۱/۲c	۲/۵bode	۰/۷۳c
آروسیریلتوم آنتیو فرم	۲۵/۸fgh	۵/۴۲c	۲۸/۵bodef	۳۲/۵abc	۱/۷۸b	۱/۱۶b	۰/۳۸fghij	۰/۰۱۰de	۱/۳c	۲/۵bodef	۰/۶۷c
آروسیریلتوم ایراکلیتر	۲۴/۸fgh	۵c	۲۷/۴ef	۳۳/۸abc	۲/۱۴b	۱/۲۳b	۰/۳۱hij	۰/۰۲bode	۱/۱c	۲/۷b	۰/۶۲c
شاهد	۳۲/۲۵gh	۵/۳c	۲۸/۱bodef	۲۴/۲۵a	۱/۸۹b	۱/۵۹b	۰/۳۹fghij	۰/۰۲ode	۰/۸c	۲/۱۵bode	۰/۳۲c

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین اثرات مختلف بایوسازمان‌های باکتری بر ویژگی‌های مختلف جواندزنی بندر

بakteri	درصد جواندزنی	شاخص جواندزنی (کل بندرها در کل روزها)	سرعت جواندزنی (بندر روز)	گیاهچه غیرعادی	طول ریشه (متر)	طول ساقچه (سانتی‌متر)	وزن تر کل (گرم)	وزن خشک کل (گرم)	قدرت نامیه (درصد)	مدت جواندزنی (روز در بندر)	نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه
سیدوئیس ۱۱۲	۷۷/۸abc	۱۴/۱c	۳۲/۲a	۱۱ij	۰/۹b	۰/۹db	۰/۶۱cdefghij	۰/۰۱۲c	۱/۵c	۲/۱gh	۱/۸abc
سیدوئیس ۱۱	۷۸abc	۱۳/۷c	۳۲/۵a	۱۱ij	۰/۷b	۰/۹b	۰/۸۷bdef	۰/۰۱۱c	۱/۳c	۲/۱h	۱/۴bc
سیدوئیس ۱۰۸	۷۶/۳abc	۱۳/۷c	۳۲/۴a	۱۱ij	۰/۷۲b	۰/۷ob	۰/۷۷cdefg	۰/۰۲cde	۱/۱c	۲/۱h	۱/۷abc
ازتوباکتر ۵	۸۲a	۱۵c	۳۲/۱a	۹/ej	۰/۸۱b	۱/۱b	۰/۸۷bdef	۰/۰۱۳de	۱/۶c	۲/۱gh	۱/۸abc
ازتوباکتر ۱۵	۷۵/۵abc	۱۳/۱۴c	۳۲/۱a	۱۲/۲ohij	۰/۷۸b	۱/۸b	۰/۷۷cdefg	۰/۰۱a	۱/۹c	۲h	۴/۳۲ab
ازتوباکتر ۳۵	۷۷/۵abc	۱۳/۱۴c	۳۲/۹a	۱۱ij	۱/۱۴b	۲/۱b	۰/۶۱cdefghij	۰/۰۴abcde	۲/۵c	۲/۱h	۴/۳۲ab
موریزوئیس ۱۵۵۹	۷۸/۵b	۱۴/۰۴c	۳۲/۱a	۱۱ij	۱/۰۳b	۱/۹b	۱/bode	۰/۰۱۱e	۲/۳c	۲/۱gh	۴/۴۴ab
موریزوئیس ۲۱۷	۸۵/۳۵a	۱۴/۳c	۳۲/۷a	۹/۷ej	۱b	۱/۷b	۰/۶۹cdefghij	۰/۰۱c	۲/۱c	۲/۱h	۴/۸۱a
موریزوئیس ۲۰۹۱	۸۵/۵a	۱۴c	۳۲/۴a	۱۰/ej	۱/۲۰b	۱/۸ab	۰/۶۱cdefghij	۰/۰۱e	۲/۵c	۲/۱h	۲/۵۲abc
آزوسیرولیم برارینس	۸۱/۷۵a	۱۴/۱۳c	۳۲/۷a	۱۰j	۱/۵۸b	۱/۸۱b	۰/۶۱cdefghij	۰/۰۱e	۲/۴c	۲/۱gh	۲/۵۲abc
آزوسیرولیم لیو فرم	۷۷/۵abc	۱۴/۳c	۳۲/۷a	۱۰/۳ej	۰/۸b	۱/۹۲b	۰/۵۸ghij	۰/۰۱c	۲/۳c	۲/۱gh	۲/۹۲abc
آزوسیرولیم ایراکتیز	۷۵/۳abc	۱۳/۳c	۳۲/۷a	۱۲hij	۱/۲b	۱/۷b	۰/۷cdefghij	۰/۰۱c	۲/۲c	۲/۱h	۱/۳۲bc
شاهد	۸۰a	۱۳/۶c	۳۱/۷a	۱۰/ej	۰/۸۲b	۱/۴cb	۰/۶۵cdefghij	۰/۰۱e	۱/۷c	۲/۲gh	۲/۱abc





جدول شماره ۵ - مقایسه ۵ دانه ۵ سیاه پسته با یکدیگر بر مبنای اترات متقابل میانگین اترات متقابل ۵ دانه ۵ سیاه پسته - ۵ سیاه پسته

نسبت طول ساقچه به ریشه پسته	مدت جواندازی (روز در بند)	قدرت نامیه (درصد)	وزن خشک کل (گرم)	وزن تر کل (گرم)	طول ساقچه (سانتی متر)	طول ریشه پسته (سانتی متر)	گنجایش غیرعادی	سرعت جواندازی (بند روز)	شاخص	
									جواندازی (کل بندها در کل روزها)	درصد جواندازی
۱/۵abc	۱۰/۴a	۱۳/۸ab	۰/۰۰ab	۱/۲۰bc	۱۳/۸ab	۹/۳۱a	۲۰/۵efghij	۹/۶g	۳۷/۴۴ab	۵۹/۵abcde
۱abc	۱۰/۴a	۱۴/۴a	۰/۰۰aa	۱/۲۳abc	۱۴/۶۱a	۷/۶۱a	۱۷/۷۵ghij	۹/۶g	۳۹/۱۸a	۱۳/۸abcd
۱/۹abc	۱۰/۴a	۱۳/۱۶ab	۰/۰۰aab	۱/۱bcde	۱۴/۱ab	۸/۴۳a	۲۰/۲۰efghij	۹/۶g	۳۱/۵۵ab	۱۰abcd
۱/۷abc	۱۰/۴a	۱۳/۵ab	۰/۰۰aab	۱/۱bcde	۱۴/۳۱ab	۷/۸۱a	۲۰/۷۰defghij	۹/۶g	۳۱/۲۴ab	۵۹/۵abcde
۲/۱abc	۱۰/۴a	۱۱/۴ab	۰/۰۰aab	۱/۱bcd	۱۲/۸ab	۷/۵۶a	۲۲/۲۵bcdefgh	۹/۶g	۳۳/۷۴ab	۵۴/۷cdefg
۱/۹abc	۱۰/۴a	۱۰/۴ab	۰/۰۰aab	۱/۱bcde	۱۱/۸ab	۶/۷۷a	۲۰/۲۰efghij	۹/۶g	۳۴/۳ab	۵۶bcdef
۱/۹abc	۱۰/۳a	۱۳/۴ab	۰/۰۰aab	۱/۱a	۱۳/۷ab	۸/۳۷a	۲۰/۲۰efghij	۹/۶g	۳۱/۵۷ab	۵۹/۵abcde
۱/۷abc	۱۰/۴a	۱۲/۱ab	۰/۰۰aab	۱/۱bcde	۱۱/۸ab	۷/۴a	۲۰/۲۰efghij	۹/۶g	۳۷/۰۴ab	۵۹/۵abcde
۱/۷abc	۱۰/۴a	۱۴/۱ab	۰/۰۰abcd	۱/۱bcde	۱۴/۱ab	۸/۳۱a	۲۰efghij	۹/۶g	۳۱/۹۲ab	۵۹/۵abcde
۱/۹abc	۱۰/۴a	۱۳/۵ab	۰/۰۰abcd	۱/۱bcde	۱۳/۵ab	۷/۲۵a	۱۹/۲۰efghij	۹/۶g	۳۷/۵۷ab	۶۱abcd
۱/۹abc	۱۰/۴a	۷/۱bc	۰/۰۰aab	۱/۱bcd	۱۱/۱ab	۵/۹۳a	۲۷/۷۵bcdefg	۹/۶g	۲۷/۲۴b	۴۵defgh
۲/۱abc	۱۰/۴a	۱۱/۱ab	۰/۰۰abc	۱/۱bcde	۱۳/۸ab	۷/۶۱a	۲۴/۷۵bcdefg	۹/۶g	۳۱/۰۳ab	۵۰/۰defgh
۱/۷abc	۱۰/۴a	۱۰/۳ab	۰/۰۰aa	۱/۱bcde	۱۱/۸ab	۸/۳۷a	۲۵/۵۵bcdefg	۹/۶g	۳۰ab	۴۹defgh

۱۱۲ سدوموناس
۱۱ سدوموناس
۱۰۸ سدوموناس
ازتوفاکتر ۵
ازتوفاکتر ۱۵
ازتوفاکتر ۳۵
موزیریتوفاکتر ۱۵۵۹
موزیریتوفاکتر ۲۱۷
موزیریتوفاکتر ۲۰۹۱
آزوسیریتوفاکتر ۲۰۹۱
آزوسیریتوفاکتر ۲۰۹۱
آزوسیریتوفاکتر ۲۰۹۱

نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه	مدت جوانداری	قدرت نابیه	وزن خشک کل	وزن تر کل	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	گیاچه غیر عادی	سرعت جوانداری	شاخص جوانداری	درصد جوانداری	صفت
											درصد جوانداری
											شاخص جوانداری
											سرعت جوانداری
											گیاچه غیر عادی
											طول ریشه‌چه
											طول ساقچه
											وزن تر کل
											وزن خشک کل
											قدرت نابیه
											مدت جوانداری
											نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه

جوانه‌زنی مقدار صفت‌های بالا کاهش یافت. طول ریشه‌چه با طول ساقه‌چه، وزن تر کل، وزن خشک کل، قدرت نامیه، مدت جوانه‌زنی رابطه مثبت و معنی‌داری داشت. یعنی با بهبود صفات مذکور طول ریشه‌چه افزایش یافت. طول ساقه‌چه با صفت‌های وزن تر و خشک کل، قدرت نامیه و مدت جوانه‌زنی رابطه مثبت و معنی‌داری داشت. وزن تر و خشک کل با قدرت نامیه، مدت جوانه‌زنی رابطه مثبت و معنی‌داری دارد. هر چه مدت جوانه‌زنی بیشتر باشد وزن تر و خشک کل افزایش می‌یابد. قدرت نامیه با مدت جوانه‌زنی رابطه مثبت و معنی‌داری دارد با افزایش قدرت نامیه، مدت جوانه‌زنی نیز افزایش می‌یابد.

بحث

گزارش شده که باکتری‌های PGPR توانایی افزایش رشد گیاه، سرعت جوانه‌زنی، سرعت ظهور گیاهچه، حفاظت گیاه از بیماری‌ها و عوامل تنش‌زای خارجی را دارند [۶]. نتایج مطالعه حاضر تأثیر این باکتری‌های در بهبود جوانه‌زنی بذر اسفرزه را در شرایط تنش سرما را ثابت می‌کند. گزارش شده که تلقیح گیاهچه انگور با باکتری سدوموناس رشد گیاه و فعالیت فیزیولوژیکی آن را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به علت فعالیت آنزیم ACC دی‌آمیناز افزایش داده است [۴]. مکانیزم‌هایی که این باکتری‌ها باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند به درستی درک نشده ولی یکی از کارهای اصلی این باکتری‌ها سنتز ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه (آرژنین، لیزین و تریپتوفان) می‌باشد که اسید آمینه تریپتوفان پیش ماده تولید هورمون اکسین بوده و این هورمون با تحریک تقسیم سلولی، تمایز سلولی و رشد طولی سلول به طور مستقیم در افزایش رشد ریشه و گیاه مؤثر می‌باشد [۷]. طبق برخی از گزارش‌ها تولید هورمون اکسین توسط باکتری‌های PGPR مخصوصاً سدوموناس و آزوسپریلیوم می‌تواند عامل اصلی افزایش ریشه، تعداد و طول تارهای کشنده و سطح ریشه می‌باشد [۲۳]. همچنین طبق گزارش کوین (۲۰۰۳) [۱۰]، هورمون اکسین منجر به رشد

تلقیح با باکتری مزوریوبیوم IC۵۹ سبب افزایش معنی‌دار در وزن تر کل نسبت به تلقیح با این باکتری در دمای ۱۰ و ۲۰ درجه شد و بیشترین وزن تر کل گیاهچه در این شرایط به دست آمد. از نظر وزن خشک کل گیاهچه بیشترین وزن خشک گیاهچه در تیمار شاهد دمای ۵ درجه حاصل شد که بیشتر از دو دمای دیگر بود و تلقیح با باکتری در این دما تأثیر معنی‌داری در افزایش وزن خشک گیاهچه شاهد نداشت. اما نسبت به تلقیح در دماهای دیگر مؤثرتر بود. قدرت نامیه بذور شاهد در دمای ۵ درجه بیشتر از دماهای دیگر بود و تلقیح باکتری در این دما تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت. اما نسبت به دماهای دیگر تلقیح تأثیر معنی‌داری داشت و بیشترین قدرت نامیه از تلقیح با باکتری سدوموناس ۱۱ در این دما به دست آمد.

مدت جوانه‌زنی بذور شاهد در دمای ۵ درجه بیشتر از تیمار شاهد در دماهای دیگر بود و تلقیح باکتری در این دما تأثیر معنی‌داری در افزایش مدت جوانه‌زنی نداشت. همچنین تلقیح باکتری در دمای ۵ درجه نسبت به تلقیح در دماهای دیگر بر مدت جوانه‌زنی بذور مؤثرتر بوده است. نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه در تیمارهای شاهد در هر ۳ دما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت اما در دمای ۱۰ درجه تلقیح با باکتری مزوریوبیوم SWRI۷ سبب افزایش معنی‌دار صفت نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه بذور نسبت به تلقیح با این باکتری در دو دمای ۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد شد.

همبستگی بین پارامترها

درصد جوانه‌زنی با شاخص جوانه‌زنی، وزن تر کل، قدرت نامیه و نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه رابطه مثبت و معنی‌داری داشت و با گیاهچه غیرعادی رابطه معنی‌دار و منفی داشت. هر چه درصد جوانه‌زنی افزایش یابد وزن تر کل، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه افزایش یافت و تعداد گیاهچه غیرعادی کاهش یافت. سرعت جوانه‌زنی با صفت‌های طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک کل، قدرت نامیه، مدت جوانه‌زنی رابطه معنی‌دار و منفی داشت با افزایش سرعت



سیستم ریشه و به دنبال آن باعث جذب مواد غذایی توسط گیاه شده و سرعت رشد را افزایش می‌دهد. در این تحقیق مشاهده شد که تلقیح بذرها با سویه سدوموناس در دمای ۵ درجه بیشترین تأثیر را بر ویژگی‌های جوانه‌زنی از قبیل شاخص جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک کل، شاخص قدرت گیاهچه و شاخص مدت جوانه‌زنی داشته است. این تأثیر ممکن است به علت اثر آنزیم ACC دی آمیناز در نگه داشتن طبیعی گیاه هنگام مواجه شدن با دمای پایین به وسیله کاهش تولید اتیلن ناشی از تنش دمایی باشد. مکانیزم‌های مرتبط با ظرفیت رشد سویه‌های باکتری در دمای پایین به وسیله گونه‌های باکتری‌های مزوفیلیک آزمایش شده است [۲۲]. آنزیم آمینوسکلوپروپان ACC دی‌آمیناز ممکن است در عمل باعث تحریک رشد گیاه و طول شدن ریشه، به دنبال آن هیدرولیز ACC ناشی از جوانه‌زنی بذری و کاهش سطوح ACC و در نتیجه کاهش سطح اتیلن شود. اگر غلظت اتیلن بعد از جوانه‌زنی بالا بماند طول شدن ریشه متوقف می‌شود [۱]. در دمای پایین جذب آب کم شده و رشد ریشه چه کاهش می‌یابد در نتیجه به جنین آسیب وارد می‌شود. با توجه به نتایج فرض بر این است که باکتری‌های مقاوم به سرما می‌توانند سطوح پرولین و فنول را بالا برده، تراوش الکترولیت را کاهش دهند، باعث ریکواری بعد از سرما و کاهش پوسیدگی ناشی از بیماری شوند زیرا که گزارش شده واکنش گیاهان به تنش سرما می‌تواند مشابه با مقاومت به بیماری قارچی باشد، مشابه می‌باشد [۴]. تولید ترکیبات ضدقارچ و سیدروفرا از اولین مکانیزم‌های مقابله با بیماری به وسیله باسیلوس‌ها و سدوموناس‌ها می‌باشد [۵]. بنا بر برخی از گزارش‌ها باکتری‌ها با سیستم ریشه‌ای ترکیب شده و جذب منابع را از محیط افزایش داده و در رشد، توسعه و سازگاری به تنش سهم دارند [۲۱]. حداکثر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه در دمای ۱۰ درجه با سویه‌های ازتوباکتر و مزوریوبیوم مشاهده شد به علت اینکه حداکثر فعالیت این باکتری‌ها و تولید هورمون‌های رشد مانند جیبرلین در این دما بوده است. هورمون جیبرلین علاوه بر

تقسیم سلولی و طول شدن سلول باعث شکستن خواب بذر شده و درصد جوانه‌زنی را افزایش داده همچنین این هورمون از جنین به لایه آلئورن رفته و باعث تحریک آنزیم‌های مؤثر در جوانه‌زنی (آلفا - آمیلاز) شده که باعث تجزیه نشاسته به گلوکز شده و نیازهای متابولیکی جنین در حال رشد را تأمین می‌کند، این عمل باعث افزایش صفات مذکور شده است. گزارش شده که باکتری‌هایی نظیر ریزو باکتری‌ها و ازتوباکتر ممکن است ارتفاع و باروری گیاه را از طریق تولید و سنتز فیتو هورمون‌ها افزایش دهد. همچنین تولید هورمون اکسین توسط باکتری‌ها در بین گونه‌های مختلف متفاوت بوده و تحت تأثیر محیط کشت، مرحله رشدی گیاه و توانایی باکتری‌ها قرار می‌گیرد [۲]. گزارش شده تأثیر باکتری سدوموناس فلورسنت در تحریک رشد گیاه به علت تولید هورمون سیتوکینین بوده و تقسیم سلولی در حضور سیتوکینین افزایش می‌یابد [۱۴]. علت افزایش رشد در حضور سدوموناس فلورسنت تغییر در غلظت ترکیبات تنظیم‌کننده رشد مانند سیتوکینین، جیبرلین و اتیلن می‌باشد [۲۴]. گزارش شده که تلقیح بذور سویا با سدوموناس و برادیوریزوبیوم استقرار و ظهور گیاهچه را بهبود داده است [۲۵]. با توجه به نتایج به دست آمده حداقل صفات‌های جوانه‌زنی مانند درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه، وزن تر و خشک کل، شاخص قدرت گیاهچه و افزایش گیاهچه غیرعادی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با تمام سویه‌های باکتری به دست آمد. این کاهش صفات ممکن است به علت کاهش فعالیت باکتری‌ها در تولید فیتو هورمون‌هایی مانند اکسین باشد که باعث افزایش طول ریشه و کارایی آن می‌شود در نتیجه جذب مواد غذایی کاهش می‌یابد در ضمن در دمای بالا تنفس گیاهچه افزایش می‌یابد و انتقال مواد غذایی بین اندام هوایی و ریشه کاهش می‌یابد و رشد ریشه محدود می‌شود و صفاتی مانند وزن خشک ریشه و شاخص جوانه‌زنی نسبت به شاهد کم می‌شود. با این حال دمای مطلوب برای رشد و تولید متابولیت‌های بازدارنده به وسیله ریزوباکتری‌ها محدود بوده است. نتایج این مطالعه با سایر محققین در زمینه تولید سیدروفور به وسیله باکتری



در محدودیت رشد گیاهان در سطح مورفولوژیکی و مولکولی می‌باشد. باکتری‌های جنس مزوریوبیوم و سدوموناس بیشترین تأثیر را بر روی صفات‌های جوانه‌زنی تحت تنش دمای پایین در مقایسه با شاهد داشته‌اند. در این راستا پیشنهاد می‌شود که کاربرد باکتری‌های محرک رشد حاوی آنزیم ACC دی‌آمیناز می‌تواند در کاهش اتیلن تولیدی ناشی از تنش سرما مؤثر باشد.

سدوموناس و کنترل بیماری در دمای رشدی مطلوب یکسان بوده است [۱۹].

نتیجه‌گیری

کشاورزی به وسیله عوامل مختلف تنش‌زا مانند تنش‌های زنده و غیرزنده محدود می‌شود. یکی از این تنش‌ها سرما می‌باشد که باعث تولید اتیلن می‌شود این تنش بیشترین عامل

منابع

1. Barka EA, Nowak J, and Clément C. Enhancement of chilling resistance of inoculated grapevine plantlets with a plant growth promoting rhizobacterium, *Burkholderia phytoWrmans* Strain PsJN. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 7246 – 52.
2. Bharathi R, Vivekananthan R, Harish S, Ramanathan A, Samiyappan R. Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chilies. *Crop Protection* 2004; 23: 835 - 43.
3. Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK. Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J. Exp. Bot.* 2004; 55: 225 – 36.
4. Compant S, Reiter B, Sessitsch A, Nowak J, Clément C and Ait Barka E. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71: 1685 – 93.
5. Dey R, Pal KK, Bhatt DM and Chauhan SM. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *J. Microbiological Res.* 2004; 159: 371 - 94.
6. Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys APtacek D and Vanderleyden J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on Effect of development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fert. Soils.* 2002; 36 (4): 284 – 97.
7. Gutierrez Mañero FJ, Probanza A, Ramos B, Colón Flores JJ, Lucas and Garc'ia JA. Effects of culture filtrates of rhizobacteria isolated from wild lupine on germination, growth and biological nitrogen fixation of *Lupinus albus* cv. Multolupa seedlings. *J. Plant. Nutr.* 2003; 26:145 - 58.
8. Jiang L, Xun MM, Wang JL, Wan JM. QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using recombination inbred lines. *Cereal Sci.* 2008; 48: 173 – 9.
9. Kaplan F, Kopka J, Haskell DW, Zhao W, Schiller KC, Gatzke N, Sung DY, Guy CL. Exploring the temperature stress metabolome of Arabidopsis. *Plant Kevin VJ.* Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil.* 2003; 255: 571 - 85.
10. Koocheki A, L. Tabrizi and M. Nassiri Mahalati. The effects of irrigation intervals and manure on quantitative and qualitative chaarecteristics of *Plantago ovate* and *Plantago*. *Asian Journal of Plant Sci.* 2007; 6: 1229 - 34.
11. Lindow SE and Leveau JH. Phyllosphere microbiology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002; 13: 238 – 43.



12. McNeili D.I. and R.S. Duran. Effect of Pregermination Treatments on Seedling Establishment and Development of *Plantago ovate* forsk. *Trop. Agri.* 1992; 69: 229 - 34.
13. Mirza MS, Ahmad W, Latif F, Haurat J, Bally R, Normand P and Malik KA. Isolation, partial characterization and effect of plant growth promoting bacteria on micropropagated sugarcane *in vitro*. *Plant Soil.* 2001; 237: 47 - 54.
14. Nadjafi F. Effect of irrigation intervals and plant density on quantity and quality of Isubgol (*Plantago ovate* Forsk). *M.Sc.Thesis*, 2002; 45-52.
15. Naghdi badi H, Dastpak HA, Ziai SA, A review of Psyllium plant (*Plantago ovata* forsk. and *Plantago psyllium* L.). *J. Medicinal Plants* 2004; 3: 1 - 13.
16. Orhan E, Esitken A, Ercisili S, Turan M and Sahin F. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Journal of Scientica Horticulture, bacteria. Can. J. Microbiol.* 2006; 47: 368 - 72.
17. Raaijmakers JM, Vlami M, de Souza JT, Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 81: 537 – 47.
18. Renaut J, Lutts S, Hoffmann L, Hausman JF. Responses of poplar to chilling temperature: proteomics and physiological aspects. *Plant Biol.* 2004; 6:81 – 90.
19. Saladin G, Cle´ment C, and Magne C. Stress effects of flumioxazin herbicide on grapevine (*Vitis vinifera* L.) grew *in vitro*. *Plant Cell Rep.* 2003; 21: 1221–1227.
20. Shaharoon B, Arshad M, Zahir ZA and Khalid A. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biol. Biochem.* 2006b; 38: 2971 - 5.
21. Sharma AK. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India. 2002a, pp: 407.
22. Zahir AZ, Arshad M and Frankenberg Cjr W F. Plant growth promoting rhizobacteria: *Applications and Perspectives in Agriculture. Advance in Agronomy* 2004; 81: 97 - 168.
23. Zahoor A, Ghafor A, and Muhammad A. *Plantago ovate*-A crop of arid and dry climates with immense herbal and pharmaceutical importance. Introduction of Medicinal Herbs and Spices as Crops Ministry of Food, Agriculture and Livestock, *Pakistan* 2004; (5): 1101 – 15.
24. Zaidi SFA. Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and bfluorescent *Pseudomonas* to control *Rhizoctonia solani* in soybean *Glycine max* (L) Merr]. *Ann. Agric. Res.* 2003; 24: 151 - 3.

